DOI:10.11931/guihaia.gxzw201809040

樟子松针叶化学成分研究

张文治*，韩松，王剑，付美玲，庞婧慧，白丽明
齐齐哈尔大学化学与化学工程学院，黑龙江 齐齐哈尔 161006

摘要：以采自黑龙江省齐齐哈尔市的樟子松（*Pinus sylvestris*）针叶作为研究对象，采用溶剂提取法对樟子松针叶中的化学成分进行提取，应用硅胶柱色谱、制备薄层色谱和高效液相色谱等现代色谱技术对提取浸膏中的化学成分进行分离和纯化，运用质谱，核磁（^{1}H-NMR 和 ^{13}C-NMR）等波谱技术，鉴定了化合物结构，并对提取浸膏的抑菌活性进行了测试。结果表明：从樟子松针叶提取物中分离得到 15 个化合物，分别鉴定为松叶酸（**1**）、松叶酸甲酯（**2**）、18*α*-acetoxylabd-8(17)-en-15-oic acid (**3**)、4-eplimbricataloic acid (**4**)、15-乙基-18-松叶酸甲酯（**5**）、15-acetoxy-labda-8(17)，13*E*-dien-18-al (**6**)、7*β*-羟基脱氢枞酸（**7**）、7*α*-羟基脱氢枞酸（**8**）、endo-peroxide (**9**)、*α*-杜松醇（**10**）、*β*-谷甾醇（**11**）、邻苯二甲酸二丁酯（**12**）、7*R*，11*R*-phytol (**13**)、正二十四烷醇（**14**）、N-octacosan7*β*-ol (**15**)。其中，化合物 **9**，**13**，**14** 和 **15** 为首次从该属植物中分离得到。抑菌活性实验结果表明，正己烷萃取浸膏在浓度为 5~100 mg · mL^{-1} 时对大肠杆菌和枯草芽孢菌的抑菌率分别为 53%~71% 和 56%~70%，在浓度为 50 mg · mL^{-1} 和 100 mg · mL^{-1} 时对金黄色葡萄球菌的抑菌率分别为 51%和 69%。该研究课题进一步明确了樟子松针叶中的化学成分，为其活性测试及应用研究提供依据。

关键词：樟子松针叶，化学成分，抑菌活性，松叶酸，7-羟基脱氢枞酸，杜松醇

Study on the chemical constituents in *Pinus sylvestris* needles

ZHANG Wenzhi*, HAN Song, WANG Jian, FU Meiling, PANG Jinghui, BAI Liming
College of Chemistry and Chemical Engineering, *Qiqihar University*, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China

Abstract: The chemical constituents of *Pinus sylvestris* needles collected from Qiqihar city in Heilongjiang Province were studied. The chemical components in the needles were extracted by solvent method. The use of column chromatography, prepared TLC, and HPLC technique led to the separation and purification of the chemical constituents in the extract. The structures for the isolated pure compounds were elucidated by analysis of spectroscopic of MS and NMR (^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR). The antibacterial activity of the extract was also scanned. As the results, 15 compounds were isolated and identified as pinifolic acid (**1**), monomethyl pinifolate (**2**), 18*α*-acetoxylabd-8(17)-en-15-oic acid (**3**), 4-eplimbricataloic acid (**4**), 15-ethyl-18-methyl pinifolate (**5**), 15-acetoxy-labda-8(17), 13*E*-dien-18-al (**6**), 7*β*-hydroxydehydroabietic acid (**7**), 7*α*-hydroxydehydroabietic acid (**8**), endo-peroxide (**9**), *α*-cadinol (**10**), *β*-sitosterol (**11**), dibutyl

---

基金项目：国家自然科学基金（21776144）；黑龙江省自然科学基金（B200907）；黑龙江省教育厅科学技术研究项目（11551532）[Supported by the National Natural Science Foundation of China (21776144); Natural Science Foundation from Heilongjiang Province (B200907); Science and Technology Project from the Education Department of Heilongjiang Province (11551532)]。

作者简介：韩松（1993-），女，黑龙江省富锦市人，在读硕士研究生，研究方向为天然产物化学，（E-mail）335970386@qq.com。

***通讯作者：**张文治（1968-），博士，教授，研究方向为天然产物化学，（E-mail）501942033@qq.com。

phthalate (**12**), 7*R*,11*R*-phytol (**13**), tetracosanol (**14**), and tacosan7*β*-ol (**15**). Compounds **9**, **13**, **14**, and **15** were isolated from the genus *Pinus* for the first time. The result of antibacterial activity indicated that the inhibition rate of hexane extract to *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* was 53%~71% and 56%~70%, respectively, on the concentration range of 5~100 mg · mL^{-1}. And, the inhibition rate to *Staphylococcus aureus* was 51% and 69% on the concentration of 50 mg · mL^{-1} and 100 mg · mL^{-1}, respectively. This research reported the isolated chemical constituent from *Pinus sylvestris* needles which will provide theoretical basis for the further investigation of active components and application of drugs.

Key words：*Pinus sylvestris* needles，chemical constituents，antibacterial activity，pinifolic acid，7-hydroxydehydroabietic acid，cadinol

樟子松（*Pinus sylvestris* L.var.*mongholica* Litv.）又称海拉尔松，系松科松属多年生高大常绿乔木，集中分布于我国东北及内蒙古地区（中国植物志编辑委员会，1996）。其针叶部分主要含有单萜、倍半萜类挥发油（潘宁等，1992；由晓峰等，2010；薄采颖等，2010；刘敏莉等，2011）和二萜类成分（张蓉等，2006），针叶油具有抗肿瘤（张蓉等，2006；Chen et al，2014）、抗氧化（Ka et al，2005；Jeong et al，2009）、抗衰老（陈长武等，2005）、抗炎（Karonen et al，2004）、抑菌（曾维才等，2009）、抗甲型流感病毒（魏凤香等，2008）、抗突变（孔志明等，1995）等生物活性，治疗风寒痹症（陈英等，2012）、免疫力低下（董朱等，2018）、缓解高血压（桑育黎等，2018）、改善心功能（李从阳等，2006）等药理作用，是一种具有潜在应用价值的中药材，为了深入了解樟子松针叶的化学成分，进一步探讨该植物的药理活性作用，本课题组对樟子松针叶正己烷萃取物的化学成分及抑菌活性进行研究，从中分离得到 15 个单体化合物，分别鉴定为松叶酸 (**1**)、松叶酸甲酯 (**2**)、18*α*-acetoxylabd-8 (17)-en-15-oic acid (**3**)、4-eplimbricataloic acid (**4**)、15-乙基-18-松叶酸甲酯 (**5**)、15-acetoxy-labda-8 (17),13*E*-dien-18-al (**6**)、7*β*-羟基脱氢枞酸 (**7**)、7*α*-羟基脱氢枞酸 (**8**)、endo-peroxide (**9**)、*α*-杜松醇 (**10**)、*β*-谷甾醇 (**11**)、邻苯二甲酸二丁酯 (**12**)、7*R*,11*R*-phytol (**13**)、正二十四烷醇 (**14**)、N-octacosan7*β*-ol (**15**)。其中，化合物 **9**，**13**，**14** 和 **15** 为首次从该属植物中分离得到。且不同浓度正己烷萃取物对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌均表现出不同程度的抑菌活性。本论文报道樟子松针叶正己烷萃取物化学成分的分离和结构鉴定及抑菌活性。

1　材料与方法

1.1 供试材料、试剂和仪器

1.1.1 供试材料　樟子松针叶，于 2016 年 9 月采集于黑龙江省齐齐哈尔市，经齐齐哈尔大学张树军教授鉴定为樟子松（*Pinus sylvestris* L.var.*mongholica* Litv.）针叶。

1.1.2 供试菌种　大肠杆菌（*Escherichia coli*）、枯草芽孢菌（*Bacillus subtilis*）、金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*），供试菌种由齐齐哈尔大学生命学院提供。

1.1.3 供试试剂　胰蛋白胨（北京奥博星生物技术有限责任公司），酵母浸粉（北京奥博星生物技术有限责任公司），氯化钠（天津市凯通化学试剂有限公司），琼脂粉（北京奥博星生物技术有限责任公司），除高效液相色谱使用的溶剂为色谱纯（天津市科密欧化学试剂有限公司）外，其他溶剂均为分析纯（天津市凯通化学试剂有限公司）。

1.1.4 主要实验仪器　Bruker AV-600 核磁共振仪（美国 Bruker 公司）；Agilent 5988A 质谱仪（美国 Agilent 公司）；Waters 2489 高效液相色谱系统（Waters 科技上海有限公司）；200 ~ 300 目硅胶及薄层色谱板（青岛海洋化工厂）；Yanako 熔点仪（北京泰克仪器有限公司）；YXQ-LS-50S11 型立式压力蒸汽灭菌器（上海博讯实业有限公司医疗设备厂）；SW-CJ-LED 型超净工作台（上海锦屏仪

器仪表有限公司通州分公司）；MIR-253 型恒温培养箱（上海精宏实验设备有限公司）。

1.2 实验方法

1.2.1 提取和萃取　取干燥樟子松针叶 11 kg，用无水乙醇浸泡 3 次，合并提取液，减压蒸馏回收乙醇，得到浸膏 304 g。将浸膏溶于水中形成混悬溶液，依次用正己烷、乙酸乙酯和正丁醇各萃取 3 次。分别合并各部位萃取液，减压蒸馏回收溶剂，得到正己烷萃取物（85 g），乙酸乙酯萃取物（82 g）和正丁醇萃取物（44 g）。

1.2.2 分离纯化　正己烷萃取物（85 g）经硅胶柱色谱进行梯度洗脱（正己烷：乙酸乙酯 = 100：0～0：100），经薄层色谱监测得到 5 个流分（Fr.1-5），Fr.3 经硅胶柱色谱分离（正己烷：乙酸乙酯 = 7：3，4：6，2：8），得到 3 个流分（Fr.3.1-3.3），Fr.3.2 经 HPLC [Cosmosil 5C_{18} AR-II（10 × 250 mm），水：甲醇 = 5：95，流速 2 mL/min]得到化合物 **1**（12.5 mg），化合物 **2**（9.6 mg）和化合物 **3**（9.4 mg），Fr.2 经硅胶柱色谱分离（正己烷：乙酸乙酯 = 8：2，6：4，4：6，2：8）得到化合物 **4**（7.4 mg），化合物 **5**（7.8 mg）和化合物 **6**（32.4 mg），Fr.4 经硅胶柱色谱分离（正己烷：乙酸乙酯 = 6：4，4：6，2：8），得到 3 个流分（Fr.4.1-4.3），Fr.4.2 经重结晶（乙酸乙酯）得到化合物 **7**（12.4 mg）和化合物 **8**（32.4 mg），Fr.4.3 经 HPLC [Cosmosil 5C_{18} AR-II（10 × 250 mm），水：甲醇 = 15：85，流速 2 mL/min]得到化合物 **9**（23.6 mg），Fr.1 经硅胶柱色谱分离（正己烷：乙酸乙酯 = 1：9，2：8，3：7，4：6，2：8），得到 5 个流分（Fr.1.1-1.5），Fr.1.2 经 HPLC [Cosmosil 5C_{18} AR-II（10 × 250 mm），水：甲醇 = 5：95，流速 2 mL/min]得到化合物 **10**（23.6 mg），Fr.1.3 经过重结晶（乙酸乙酯）得到化合物 **11**（17.5 mg），Fr.1.4 经过重结晶（乙酸乙酯）得到化合物 **12**（7.4 mg），Fr.1.5 经 HPLC [Cosmosil 5C_{18} AR-II（10 × 250 mm），水：甲醇 = 5：95，流速 2 mL/min]得到化合物 **13**（15.2 mg），化合物 **14**（12.3 mg）和化合物 **15**（15.2 mg）。

1.2.3 抑菌活性实验　将正己烷萃取物以丙酮为溶剂，配制浓度分别为 100 mg · mL^{-1}、50 mg · mL^{-1}、25 mg · mL^{-1}、10 mg · mL^{-1} 和 5 mg · mL^{-1} 溶液，用于抑菌活性测定。采用 LB 培养基，通过平板培养皿培养法，对上述不同浓度萃取物药液进行抑菌活性实验测定，以丙酮作对照，每组 3 次平行实验。当对照组的菌落直径长至培养皿底部的 3/4 时，用十字交叉法（於祥和陈娅芳，2018；郑锋等，2016）测量菌落直径，并通过以下公式计算抑菌率。

$$\text{菌落直径（}cm\text{）} = \text{直径平均数} - 0.4\text{（菌饼的直径）}$$

$$\text{抑制率（\%）} = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100$$

2　结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 **1**　黄色无定型粉末（乙酸乙酯），mp = 246～268 °C, EI-MS m/z: 336 $[M]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{32}O_4$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$)　δ: 0.71 (3H, s, H-20), 0.98 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-16), 1.15 (3H, s, H-19), 4.50 (1H, br s, H-17α), 4.82 (1H, br s, H-17β); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 14.7 (q, C-20), 16.3 (q, C-19), 18.4 (t, C-2), 20.0 (q, C-16), 20.7 (t, C-11), 26.8 (t, C-6), 30.8 (d, C-13), 35.6 (t, C-12), 37.1 (t, C-3), 37.8 (t, C-7), 38.0 (t, C-1), 39.0 (s, C-10), 41.1 (t, C-14), 47.5 (s, C-4), 49.6 (d, C-5), 57.0 (d, C-9), 107.0 (t, C-17), 147.9 (s, C-8), 178.6 (s, C-15), 184.4(s, C-18)。与文献 (Carreras et al，1998) 数据基本一致，因此，鉴定化合物 **1** 为松叶酸。

化合物 **2**　白色粉末（乙酸乙酯），mp = 216～218 °C, EI-MS m/z: 350 $[M]^+$, 分子式为 $C_{21}H_{34}O_4$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 0.98 (3H, d, J = 7.1 Hz, H-16), 1.14 (3H, s, H-19), 2.72 (3H, s, H-20), 3.66 (3H, s, H-21), 4.49 (1H, br s, H-17α), 4.82 (1H, br s, H-17β); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 14.7 (q, C-20), 16.6 (q, C-19), 18.5 (t, C-2), 19.9 (q, C-16), 20.8 (t, C-11), 26.8 (t, C-6), 31.0 (d, C-13), 35.8 (t,

C-12), 37.0 (t, C-7), 37.9 (t, C-1), 38.1 (t, C-3), 39.1 (s, C-10), 41.6 (t, C-14), 47.8 (s, C-4), 49.9 (d, C-5), 51.9 (q, C-21), 57.1 (d, C-9), 106.9 (t, C-17), 148.0 (s, C-8), 179.35 (s, C-15), 179.4 (s, C-18)。与文献（Zinkel et al，1985）报道的数据基本一致，故鉴定化合物 **2** 为 monomethyl pinifolate。

化合物 **3**　白色无定形粉末（乙酸乙酯），mp = 217 ~ 219 °C, EI-MS m/z: 364 $[M]^+$, 分子式为 $C_{22}H_{36}O_4$, ^{1}H-NMR (600 MHz, CDC1₃) *δ*: 0.72 (3H, s, H-20), 0.88 (3H, s, H-19), 0.97 (3H, *J* = 6.3 Hz, H-16), 2.04 (3H, s, H-22), 3.71 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-18*α*), 3.82 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-18*β*), 4.49 (1H, br s, H-17*α*), 4.82 (1H, br s, H-17*β*); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 14.9 (q, C-20), 17.5 (q, C-19), 18.5 (t, C-2), 19.9 (q, C-16), 21.0 (q, C-22), 21.1 (t, C-11), 24.3 (t, C-6), 30.9 (d, C-13), 35.8 (t, C-12), 35.9 (t, C-3), 36.9 (s, C-4), 38.0 (t, C-7), 38.5 (t, C-1), 39.6 (s, C-10), 41.4 (t, C-14), 49.5 (d, C-5), 57.2 (d, C-9), 73.0 (t, C-18), 106.7 (t, C-17), 148.1 (s, C-8), 171.3 (s, C-21), 179.2 (s, C-15)。与文献（Francesca et al，1999）报道的基本一致，因此，鉴定化合物 **3** 为 18*α*-acetoxylabd-8(17)-en-15-oic acid。

化合物 **4**　黄色无定型粉末（乙酸乙酯），mp = 224 ~ 226 °C, EI-MS m/z: 320 $[M]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{32}O_3$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 0.71 (3H, s, H-20), 0.98 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-16), 1.14 (3H, s, H-19), 4.49 (1H, br s, H-17α), 4.83 (1H, br s, H-17β), 9.76 (1H, s, H-15); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 14.7 (q, C-20), 16.4 (q, C-19), 18.4 (t, C-2), 20.18 (t, C-11), 20.2 (q, C-16), 26.8 (t, C-6), 28.9 (d, C-13), 36.0 (t, C-12), 37.1 (t, C-7), 37.15 (t, C-3), 38.0 (t, C-1), 39.0 (s, C-10), 47.5 (s, C-4), 49.6 (d, C-5), 50.9 (t, C-14), 57.1 (d, C-9), 107.0 (t, C-17), 147.9 (s, C-8), 183.9 (s, C-18), 203.1 (d, C-15)。与文献（Zinkel et al，1985）数据基本一致，因此，鉴定化合物 **4** 为 4-eplimbricataloic acid。

化合物 **5**　黄色无定型粉末（乙酸乙酯），mp = 209 ~ 211 °C, EI-MS m/z: 378 $[M]^+$, 分子式为 $C_{23}H_{38}O_4$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 1.26 (3H, d, *J* = 7.1 Hz, H-22), 3.66 (3H, s, H-23), 4.13 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-21), 4.49 (1H, br s, H-17*α*), 4.81 (1H, br s, H-17*β*); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 14.3 (q, C-22), 14.7 (q, C-20), 16.6 (q, C-19), 18.5 (t, C-2), 20.0 (q, C-16), 20.8 (t, C-11), 26.8 (t, C-6), 31.0 (d, C-13), 35.8 (t, C-12), 37.0 (t, C-3), 37.1 (t, C-7), 38.1 (t, C-1), 39.1 (s, C-10), 41.7 (t, C-14), 47.8 (s, C-4), 49.9 (d, C-5), 51.9 (q, C-23), 57.1 (d, C-9), 60.1 (t, C-21), 106.9 (t, C-17), 148.0 (s, C-8), 173.3 (s, C-15), 179.4 (s, C-18)。与文献（张蓉等，2006）数据基本一致，故鉴定化合物 **5** 为 15-乙基-18-松叶酸甲酯。

化合物 **6**　淡黄色无定型粉末（乙酸乙酯），mp = 233 ~ 234 °C, EI-MS m/z: 346 $[M]^+$, 分子式为 $C_{22}H_{34}O_3$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 0.70 (3H, s, H-20), 0.97 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-16), 1.04 (3H, s, H-19), 4.59 (1H, br s, H-17*α*), 4.86 (1H, br s, H-17*β*), 9.24 (1H, s, H-18); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 14.2 (q, C-19), 14.7 (q, C-20), 16.5 (q, C-16), 17.7 (t, C-2), 21.1 (q, C-22), 21.1 (t, C-11), 26.7 (t, C-6), 32.3 (t, C-3), 37.5 (t, C-7), 37.8 (t, C-12), 38.2 (t, C-1), 38.4 (s, C-10), 47.6 (d, C-5), 49.9 (s, C-4), 56.2 (d, C-9), 61.4 (t, C-15), 107.4 (t, C-17), 118.2 (d, C-14), 142.6 (s, C-13), 147.2 (s, C-8), 171.1 (s, C-21), 206.4 (d, C-18)。与文献（张蓉等，2006）数据基本一致，故鉴定化合物 **6** 为 15-acetoxy-labda-8(17),13*E*-dien-18-al。

化合物 **7**　无色针晶（乙酸乙酯），mp = 105 ~ 107 °C, EI-MS m/z: 316 $[M]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{28}O_3$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 1.23 (2 × 3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-16/17) , 1.29 (2 × 3H, s, H-19/20) , 2.88 (1H, m, H-15) , 4.91 (1H, dd, *J* = 7.5, 2.0 Hz, H-7) , 7.10 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.5 Hz, H-12) , 7.16 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-11) , 7.38 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-14); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 15.7 (q, C-19) , 17.8 (t, C-2) , 23.3 (q, C-16) , 23.5 (q, C-17) , 24.9 (q, C-20) , 32.2 (t, C-6) , 33.1 (d, C-15) , 35.7 (t, C-3) , 37.0 (s, C-10) , 37.4 (t, C-1) , 42.8 (d, C-5) , 46.5 (s, C-4) , 70.1 (d, C-7) , 123.6 (d, C-11) , 124.6 (d, C-12) , 125.3 (d, C-14) , 136.8 (s, C-8) , 146.0 (s, C-13) , 146.4 (s, C-9) , 183.3 (s, C-18) 。与文献（芦毅和华燕，2011）数据基本一致，因此，鉴定化合物 **7** 为 7*β*-羟基脱氢枞酸。

化合物 **8**　无定形粉末(乙酸乙酯)，mp = 107 ~ 110 °C, EI-MS m/z: 316 $[M]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{28}O_3$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 1.16 (3H, s, H-20), 1.23 (2 × 3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-16/17), 1.26 (3H, s, H-19), 2.87 (1H, m, H-15), 4.53 (1H, br s, H-7), 7.13 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.8 Hz, H-12), 7.18 (1H, d, *J* = 1.8

Hz, H-14), 7.19 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-11); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 16.6 (q, C-19), 18.6 (t, C-2), 23.9 (q, C-17), 24.1 (q, C-16), 24.2 (q, C-20), 30.9 (t, C-6), 33.5 (d, C-15), 36.3 (t, C-3), 37.4 (s, C-10), 37.7 (t, C-1), 39.8 (d, C-5), 47.0 (s, C-4), 68.3 (d, C-7), 124.2 (d, C-12), 126.7 (d, C-11), 128.3 (d, C-14), 135.6 (s, C-8), 146.6 (s, C-9), 146.7 (s, C-13), 182.8 (s, C-18)。与文献（张蓉等，2006）基本一致，因此，鉴定化合物 **8** 为 7α-羟基脱氢枞酸。

化合物 **9**　黄色油状物，EI-MS m/z: 334 [M]$^+$，分子式为 $C_{20}H_{30}O_4$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 0.58 (3H, s, H-19), 0.99-2.49 (15H, m), 1.04-1.13 (2 × 3H, d, J = 7.0 Hz, H-16/H-17), 1.16 (3H, s, H-18), 2.51 (1H, qd, J = 7.0 Hz, H-15), 4.60 (1H, br s, H-12)5.84 (1H, s, H-14); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 15.1 (q, C-16), 16.3 (q, C-17), 17.0 (CH_2), 20.1 (q, C-20), 20.4 (q, C-19), 21.6 (CH_2), 25.0 (CH_2), 31.0 (CH), 32.1 (CH_2), 36.2 (CH_2), 36.6 (CH_2), 36.8 (CH), 43.2 (CH), 48.8 (C), 50.0 (C), 74.6 (s, C-8), 76.9 (d, C-12), 124.6 (d, C-14), 149.1 (s, C-13), 184.2 (s, C-18)。与文献（Ayer & Macaulay，1987）基本一致，因此，鉴定化合物 **9** 为 endo-peroxide。

化合物 **10**　黄色油状物，EI-MS m/z: 222 [M]$^+$，分子式为 $C_{15}H_{26}O$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 0.77 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-14), 0.92 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-13), 1.05 (1H, m, H-7), 1.11 (3H, s, H-15), 1.22 (1H, m, H-9), 1.24 (1H, m, H-1), 1.41 (1H, m, H-9), 1.59 (2H, m, H-2), 1.67 (3H, s, H-11), 1.72 (1H, m, H-6), 1.79 (1H, m, H-10), 1.98 (2H, m, H-3), 2.00 (2H, m, H-9), 2.18 (1H, m, H-12), 5.50 (1H, br s, H-5); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 15.8 (q, C-14), 21.0 (q, C-15), 21.7 (q, C-13), 22.0 (t, C-2), 22.8 (t, C-8), 23.2 (d, C-11), 29.9 (d, C-6), 30.7 (t, C-3), 37.2 (q, C-12), 42.0 (t, C-9), 46.1 (d, C-7), 50.8 (d, C-1), 72.1 (s, C-10), 122.1 (d, C-5), 133.8 (s, C-4)。与文献（Bottini et al，1987；Tanaka et al，1997）基本一致，因此，鉴定化合物 **10** 为α-杜松醇。

化合物 **11**　白色晶体（乙酸乙酯），mp = 139 ~ 142 °C, EI-MS m/z: 414 [M]$^+$，分子式为 $C_{29}H_{50}O$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 0.68 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-27), 0.83 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-26), 0.84 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-29), 0.93 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-21), 1.01 (3H, s, H-19), 3.54 (1H, m, H-3), 5.35 (1H, br d, J = 3.6 Hz, H-6); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 11.9 (q, C-29), 12.0 (q, C-19), 18.8 (q, C-21), 19.0 (q, C-26), 19.4 (q, C-18), 19.8 (t, C-1), 21.1 (t, C-2), 23.1 (q, C-27), 24.3 (d, C-14), 26.1 (t, C-15), 28.2 (t, C-11), 29.2 (t, C-12), 30.5 (t, C-28), 31.7 (t, C-16), 31.9 (t, C-22), 34.0 (d, C-25), 36.2 (d, C-24), 36.5 (d, C-23), 37.3 (d, C-20), 39.8 (d, C-17), 42.3 (s, C-13), 42.32 (s, C-10), 45.8 (t, C-7), 50.1 (d, C-8), 56.1 (d, C-9), 56.8 (t, C-4), 71.8 (d, C-3), 121.7 (d, C-6), 140.8 (s, C-5)。与文献(康淑荷等，2008；张博等，2009）基本一致，因此，鉴定化合物 **11** 为β-谷甾醇。

化合物 **12**　黄色油状物，EI-MS m/z: 278 [M]$^+$，分子式为 $C_{16}H_{22}O_4$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 0.70 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-4′), 1.19 (2H, m, H-3′), 1.45 (2H, m, H-2′), 4.06 (2H, m, H-1′), 7.25 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-4), 7.47 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-3); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 12.7 (q, C-4′), 18.3 (t, C-3′), 29.7 (t, C-2′), 64.3 (t, C-1′), 127.9 (d, C-3), 130.0 (d, C-4), 131.6 (s, C-2), 166.4 (s, C-1)。与文献（Hoang et al，2008）基本一致，因此，鉴定化合物 **12** 为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物 **13**　淡黄色油状物，EI-MS m/z: 296 [M]$^+$，分子式为 $C_{20}H_{40}O$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 0.84 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-19), 0.86 (3H, J = 6.5 Hz, H-18), 0.88 (2 × 3H, d, J = 6.5 Hz, H-16/H-17), 1.25 (8H, m, H-6, 8, 10, 12), 1.14 (2H, m, H-14), 1.28 (4H, m, H-9, 13), 1.37 (2H, m, H-7, 11), 1.39 (2H, m, H-5), 1.53 (1H, m, H-15), 1.67 (3H, s, H-20), 2.00 (2H, m, H-4), 4.16 (2H, m, H-1), 5.41 (1H, m, H-2); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 16.2 (q, C-16), 19.7 (q, C-17), 19.8 (q, C-18), 22.7 (q, C-19), 23.7 (q, C-20), 24.5 (t, C-9), 24.8 (t, C-13), 25.1 (t, C-5), 28.0 (d, C-15), 32.7 (d, C-7), 32.8 (d, C-11), 36.7 (t, C-6), 37.3 (t, C-12), 37.4 (t, C-10), 37.42 (t, C-8), 39.4 (t, C-14), 39.9 (t, C-4), 59.5 (t, C-1), 123.1 (d, C-2), 140.4 (s, C-3)。与文献（Brown et al，2003）基本一致，因此，鉴定化合物 **13** 为 7R,11R-phytol。

化合物 **14**　白色粉末（乙酸乙酯），mp = 75 ~ 77 °C, EI-MS m/z: 340 [M]$^+$，分子式为 $C_{24}H_{50}O$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 0.88 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-24)为末端甲基氢信号, 1.30～1.62 (CH_2), 3.64

(2H, m, H-1) 为与氧相连的氢质子信号；^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 14.1 为末端甲基碳信号, 22.7～33.2 (22 × CH_2), 63.1 为与氧相连的碳信号。与文献（张倩等，2004）基本一致，因此，鉴定化合物 **14** 为正二十四烷醇。

化合物 **15**　白色晶体（乙酸乙酯），mp = 74 ~ 75 °C, EI-MS m/z: 410 $[M]^+$, 分子式为 $C_{28}H_{58}O$, ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 0.95 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-28), 0.98 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1), 1.34 (34H, m, 17 × CH_2), 1.51 (8H, m, 4 × CH_2), 1.70 (4H, m, 2 × CH_2), 2.14 (2H, m, H-8), 2.36 (2H, m, H-6), 3.66 (1H, br m, H-7*α*); ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 14.1 (C-1, C-28), 22.7 (CH_2), 25.7 (CH_2), 29.3 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.6 (5 × CH_2), 29.7 (13 × CH_2), 31.9 (2 × CH_2), 37.5 (CH_2), 72.0 (d, C-7)。与文献（Jameel et al，2014）基本一致，因此，鉴定化合物 **15** 为 N-octacosan7*β*-ol。

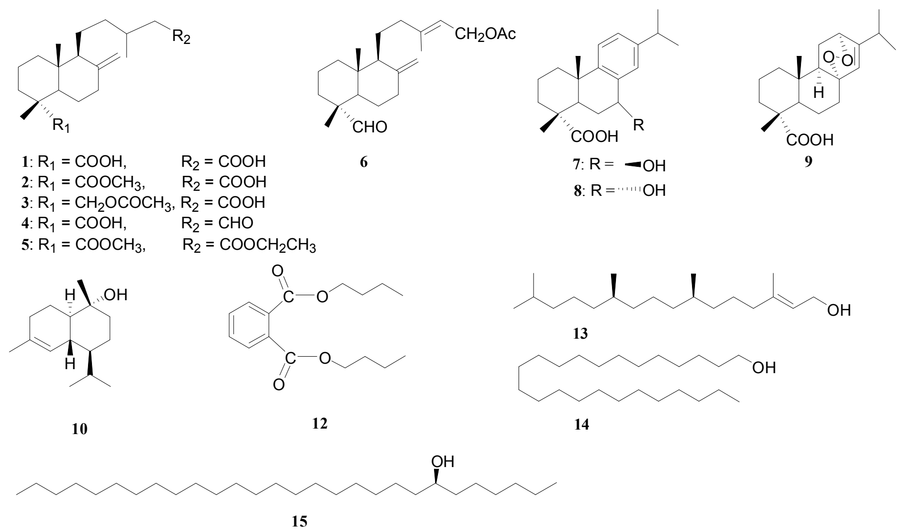


图 1　化合物 **1~10**，**12~15** 结构式

Fig.1　Structures of compounds **1~10**, **12~15**

2.2 抑菌活性实验结果

不同浓度正己烷萃取物对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性实验结果如表 1 所示。结果表明，正己烷萃取物对上述三种病原菌均显示不同程度的抑制效果，其中，在测试浓度范围内，正己烷萃取物对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抑制率均大于 50%，浓度在 50 mg · mL^{-1} 和 100 mg · mL^{-1} 时对金黄色葡萄球菌的抑制率分别是 51%和 69%，浓度范围在 5~25 mg · mL^{-1} 时，对金黄色葡萄球菌没有抑菌作用。

表 1　正己烷萃取物的抑菌活性

Table 1　Antibacterial activity of hexane extract

浓度（mg · mL^{-1}）	抑制率 Inhibition rate (%)		
	大肠杆菌 *Escherichia coli*	枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*	金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*
100	71	70	69
50	69	68	51
25	63	62	无 None
10	58	60	无 None
5	53	56	无 None

3　结果讨论与结论

樟子松作为一种松属植物，目前，国内外对其针叶的研究报道主要集中于挥发油和精油的GC-MS分析，主要采取水蒸气蒸馏法，针叶油药理作用研究主要集中于抗肿瘤（张蓉等，2006；Chen et al，2014）、抗氧化（Ka et al，2005；Jeong et al，2009）、抗炎（Karonen et al，2004）、抑菌（曾维才等，2009）和抗病毒（魏凤香等，2008）等方面研究，除了张蓉课题组报道了松针中化学成分的分离，此外，对松针中单体化合物的分离及抗细菌作用研究却少有报道。本研究采用溶剂提取法，以无水乙醇为溶剂，对樟子松针叶中的化学成分进行提取，并对提取浸膏进行了梯度萃取，得到不同极性的正己烷、乙酸乙酯和正丁醇萃取物。采用柱色谱、薄层色谱和高效液相色谱对正己烷萃取物中的化学成分进行分离纯化，运用核磁、质谱等波谱技术，经波谱数据分析对分离得到的化合物进行了结构鉴定。抑菌活性实验研究表明，正己烷萃取物在浓度为5 $mg\cdot mL^{-1}$、10 $mg\cdot mL^{-1}$、25 $mg\cdot mL^{-1}$、50 $mg\cdot mL^{-1}$和100 $mg\cdot mL^{-1}$时，对大肠杆菌的抑制率分别为53%，58%，63%，69%和71%；对枯草芽孢杆菌的抑制率分别为56%，60%，62%，68%和70%；在浓度为50 $mg\cdot mL^{-1}$和100 $mg\cdot mL^{-1}$时，对金黄色葡萄球菌的抑制率分别为51%和69%。

研究结果表明，通过对正己烷萃取物化学成分的分离和纯化，并经过结构鉴定得到15个化合物，其中，有4个化合物为首次从该属植物中分离得到。樟子松针叶正己烷萃取物在一定浓度范围内对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌具有不同程度的抑制作用，本研究结果可为樟子松针叶作为植物源药物的进一步研究和开发提供理论及实验依据。

参考文献:

AYER WA, MACAULAY JB, 1987. Metabolites of the honey mushroom. *Armillaria mellea*[J]. Can J Chem, 65(65): 7-14.

BOTTINI AT, GARFAGNOLI DJ, DELGADO LS, et al, 1987. Sesquiterpene alcohols from *Hedychium spicatum* var.Acuminatum[J]. J Nat Prod, 50(4): 732-734.

BROWN GD, LIANG GY, SY LK, 2003. Terpenoids from the seeds of *Artemisia annua*[J]. Phytochemistry, 64(1): 303-323.

CARRERAS CR, ROSSOMANDO PC, GIORDANO OS, 1998. Ent-labdanes in eupatorium buniifolium[J]. Phytochemistry, 48(6): 1031-1034.

CHEN CW, CHANG YQ, QU HG, et al, 2005. Experimental study of pine needle on anti-aging[J]. Food Science, 26(9): 465-467. [陈长武，昌友权，曲红光，等，2005. 松针提取物抗衰老氧化作用研究[J]. 食品科学，26(9)：465-467.]

CHEN W, XU B, MAO J, et al, 2014. Inhibitory effects of α-pinene on Hepatoma Carcinoma cell proliferation[J]. Asian Pac J Cancer P, 15(7): 3293-3297.

CHEN Y, LIU CG, ZHAO YZ, et al, 2012. Advances in functional components of pine needles and its application[J]. J Anhui Agric Sci, 40(10): 5994-5996. [陈英，刘成国，赵毓芝，等，2012．松针功能性成分及应用研究进展[J]．安徽农业科学，40(10) : 5994-5996．]

DENG Z, FAN H, WANG LP, 2018. Advances in anti-tumor mechanisms of pine needles[J]. Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology, 25(2): 307-309. [董朱，范辉，王良萍，2018．松针抗肿瘤作用机制的研究进展[J]．中国中医药科技，25(2): 307-309．]

Editorial Committee of Flora Reipublicae Popularis Sinicae, 1996. Flora Reipublicae Popularis Sinicae[M]. Beijing: Science Press: 152-153. [中国科学院中国植物志编辑委员会，1996．中国植物志[M]．北京：科学出版社：152-153．]

FRANCESCA F, CECILIA L, RENÉ T, et al, 1999. Diterpenes from *Haplopappus chrysanthemifolius*[J]. Phytochemistry, 52(8): 1547-1550.

HOANG VL, LI Y, KIM SK, 2008. Cathepsin B inhibitory activities of phthalates isolated from a marine *Pseudomonas* strain[J]. Bioorg Med Chem Lett, 18(6): 2083-2088.

JAMEEL M, ISLAMUDDIN M, ALI A, et al, 2014. Isolation, characterization and antimicrobial evaluation of a novel compound N-octacosan 7β ol, from *Fumaria parviflora* Lam[J]. Evid-based Compl Altern, 14(98): 1-9.

JEONG JB, SEO EW, JEONG HJ, 2009. Effect of extracts from pine needle against oxidative DNA damage and apoptosis induced by hydroxyl radical via antioxidant activity[J]. Food Chem Toxico, 47(8): 2135-2141.

KANG SH, SHI YQ, YANG CX, et al, 2008. Triterpenoids and steroids of root of *Rubus biflorus*[J]. J Chin Med Mat, 31(11): 1669-1671. [康淑荷，师永清，杨彩霞，等，2008．粉枝莓根中的三萜及甾体化合物[J]．中药材，31(11)：1669-1671．]

KONG ZM, QIAO QR, XU YJ, et al, 1995. The suppressing effect of pine needle extracts on micronuclei and SCEs in human peripheral blood lymphocyte induced by cyclophosphamide[J]. Teratogen Carcin Mut, 17(7): 349-351. [孔志明，乔全荣，徐玉军，等，1995．松针提取物拮抗环磷酰胺诱发人外周血淋巴细胞微核及 SCE 的研究[J]．癌变・畸变・突变，17(7)：349-351．]

LI CY, MIAO WN, SHAN HM, 2006. Effects of essential oils in pine needles for the blood pressure and LVH in 2k1c hypertensive rats[J]. Chin J Pract Chin Mod Med, 19(4): 369-370. [李从阳，苗维纳，单红梅，2006．松针挥发油对双肾一夹高血压大鼠血压及左心室肥大的影响[J]．中华实用中西医杂志，19(4)：369-370．]

LU Y, HUA Y, 2011. Abietane diterpenes from *Callicarpa pedunculata*[J]. Nat Prod Res Dev, 23(1): 66-68. [芦毅，华燕，2011．紫珠的松香烷型二萜成分研究[J]．天然产物研究与开发，23(1)：66-68．]

MAARIT K, MARI H, RIINA N, et al, 2004. Phenolic extractives from the bark of *Pinus sylvestris* L. and their effects on inflammatory mediators nitric oxide and prostaglandin E2[J]. J Agric Food Chem, 52: 7532-7540.

PAN N, YAN ZM, NIU ZD, 1992. GC-MS analysis of essential oils in needles of *Pinus* in northeastern China[J]. J Chin Mater Med, 17(3): 166-168. [潘宁，严仲铭，牛志多，1992．中国东北松属植物叶中精油的气一质谱分析[J]．中国中药杂志，17(3)：166-168．]

SANG YL, ZHANG YJ, GAO TX, et al, 2018. Research advance on pine needle oil[J]. Journal of Liaoning University, 45(2): 162-169. [桑育黎，张芸嘉，高天祥，等，2018．松针挥发油研究进展[J]．辽宁大学学报，45(2)：162-169．]

TANAKA R, OHTSU H, MATSUNAGA S, 1997. Abietane diterpene acids and other constituents from the leaves of *Larix kaempferi*[J]. Phytochemistry, 46(6): 1051-1057.

WEI FX, LI MY, WANG X, et al, 2008. Experimental study on the anti-influenza A virus effect of pine needle oil[J]. Chin J Geront, 28(8): 1584-1586. [魏凤香，李美玉，王昕，等，2008．松针油抗甲型流感病毒的实验研究[J]．中国老年学杂志，28(8)：1584-1586．]

YOU XF, FANG HZ, SUN CH, 2010. Study on chemical components of the volatile oil in pine needles of Scotch pine from different months[J]. Chin J Pharm Anal, 30(7): 1199-1204. [由晓峰，方洪壮，孙长海，2010．不同月份樟子松针叶挥发油的成分分析[J]．药物分析杂志，30(7)：1199-1204．]

YU X, CHEN YF, 2018. Evaluation of 2,3-diphenyl-4-thiazolidinone derivatives as antifungal agents[J]. Chem Bull, 81(8): 759-762.

ZHANG B, SUN JM, CHANG RL, et al, 2009. Studies on the Chemical constituents of the root and rhizome of *Ligusticum jeholense*[J]. J Chin Med Mat, 32(5): 710-712. [张博，孙佳明，常仁龙，等，2009．辽藁本化学成分研究[J]．中药材，32(5)：710-712．]

ZENG WC, JIA LR, 2009. Antimicrobial activities of pine needle extracts[J]. Food Science, 30(7): 87-90. [曾维才，贾利蓉，2009．松针提取物抑菌作用的研究[J]．食品科学，30(7)：87-90．]

ZHANG Q, QU GR, GUO HM, et al, 2004. Study on the chemical constituents from *Broussonetia papyrifera* inflorenscence[J]. J Chin Med Mat, 27(3): 182-183. [张倩，渠桂荣，郭海明，等，2004．雄构树花序化学成分研究[J]．中药材，27(3)：182-183．]

ZHANG R, DUAN HQ, YAO Z, et al, 2006. Study on diterpenes in needles of *Pinus sylvestris*[J]. J Chin Mater Med, 31(23): 1956-1959. [张蓉，段宏泉，姚智，等，2006. 樟子松针叶中二萜类成分研究[J]. 中国中药杂志，31(23)：1956-1959．]

ZHENG F, WANG YF, ZHANG YB, et al, 2016. Antimicrobial activity of cinnamon oil in foods based on Modified Gompertz model[J]. Mod Food Sci Technol, 32(6): 188-193, 212. [郑锋，王一非，张赟彬，等，2016. 基于 Modified Gompertz 研究食品模型中肉桂精油的抑菌活性[J]. 现代食品科技，32(6)：188-193．]

ZINKEL DF, MAGEE TV, WALTER J, 1985. Major resin acids of *Pinus nigra* needles[J]. Phytochemistry, 24(6): 1273-1277.